日本龟蜡蚧雌成虫越冬前后耐寒性及相关生化物质含量的变化

刘兆良, 袁忠林, 罗 兰*

(青岛农业大学农学与植物保护学院, 山东青岛 266109)

摘要:【目的】了解日本龟蜡蚧 *Ceroplastes japonicus* Green 越冬前后对低温的耐受性和低温生存对策。【方法】采用热电偶法测定了日本龟蜡蚧雌成虫越冬前(10 月)、越冬期(1 月)及越冬后(4 月)的过冷却点和冰点;采用生理生化方法测定了其体内的水分、脂肪、甘油、总糖、糖原以及海藻糖的含量。【结果】日本龟蜡蚧越冬期的过冷却点和冰点最低,分别为 -13.74℃和 -10.13℃,与越冬前(分别为 -13.30℃和 -9.95℃)差异不显著,但显著低于越冬后的(分别为 -11.88℃和 -7.12℃)。体内含水量在越冬期最低,为 11.28%,显著低于越冬前(28.84%)和越冬后(29.60%)的含水量。脂肪含量在越冬前和越冬期较高,分别为 86.38% 和 85.77%,且显著高于越冬后的(77.63%)。甘油含量在越冬前、后和越冬期均无显著差异。总糖含量在越冬前和越冬期均显著高于越冬后的。糖原含量在越冬前、越冬期和越冬后分别为 4.03, 5.45 和 1.76 μg/mg,三者差异显著,越冬后糖原含量显著降低。海藻糖含量在越冬前最高为 14.72 μg/mg,显著高于越冬期(6.85 μg/mg)和越冬后(7.92 μg/mg),但越冬期和越冬后差异不显著。【结论】本研究结果明确了日本龟蜡蚧在越冬前后、越冬期的抗寒能力及与抗寒相关物质含量的变化情况,可为正确评价日本龟蜡蚧低温适应性、预测地理分布和种群变化提供理论依据。

关键词: 日本龟蜡蚧; 越冬; 耐寒性; 过冷却点; 生化物质; 低温适应性

中图分类号: Q968 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2017)01-0120-07

Changes in the cold hardiness and contents of the related biochemical substances in female adults of *Ceroplastes japonicus* (Hemiptera: Coccoidea) before and after overwintering

LIU Zhao-Liang, YUAN Zhong-Lin, LUO Lan* (College of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China)

Abstract:【Aim】This study aims to investigate the cold tolerance and cold hardiness strategies of *Ceroplastes japonicus* Green in different overwintering stages (before, during and after overwintering). 【Methods】The supercooling point (SCP) and freezing point (FP) of *C. japonicus* before overwintering (October), during overwintering (January) and after overwintering (April) were measured with thermocouple method, and the contents of body water, fat, glycerol, total sugar, glycogen and trehalose were examined with physiological and biochemical methods. 【Results】The SCP and FP of *C. japonicus* during overwintering were the lowest (-13.74℃ and -10.13℃, respectively), significantly different from those after overwintering (-11.88℃ and -7.12℃, respectively), but with no difference from those before overwintering (-13.30℃ and -9.95℃, respectively). The body water contents of *C. japonicus* before, during and after overwintering were 28.84%, 11.28% and 29.60%, respectively. The body water contents before and after overwintering had no difference, but were significantly different from that during overwintering. The fat contents before overwintering (86.38%) and during

基金项目: 崂山林业有害生物普查专项(6602415016)

作者简介: 刘兆良, 男, 1993 年 2 月生, 山东青岛人, 硕士研究生, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: 1224269375@qq.com

*通讯作者 Corresponding author, E-mail: luolanchinese@163.com

收稿日期 Received: 2016-09-21; 接受日期 Accepted: 2016-12-14

overwintering (85.77%) had no difference, but were significantly different from that after overwintering (77.63%). The glycerol content had no significant difference in the three stages. The total sugar contents before overwintering and during overwintering were significantly higher than that after overwintering. The glycogen contents before, during and after overwintering were 4.03, 5.45 and 1.76 μg/mg, respectively, with significant difference among the three stages, and the glycogen content decreased significantly after overwintering. The trehalose content before overwintering was the highest (14.72 μg/mg), significantly different from those during overwintering (6.85 μg/mg) and after overwintering (7.92 μg/mg), but with no significant difference between during overwintering and after overwintering. 【Conclusion】 The results revealed the cold hardiness of *C. japonicus* in different overwintering stages, as well as the changes in contents of cold hardiness-related substances, and would provide the basis for evaluating the low temperature adaptation, geographical distribution and population dynamics of *C. japonicus*.

Key words: *Ceroplastes japonicus*; overwintering; cold hardiness; supercooling point; biochemical substances; low temperature adaptation

昆虫是一类变温动物,极端高温和低温都会影响其正常的生长发育和生存。昆虫耐寒性是其度过寒冷冬季的重要方式,其对低温的适应能力直接决定着其种群的生存、分布与扩散(李庆等, 2008)。因此,昆虫耐寒性是昆虫研究中的热点之一(Sømme, 1999; Bale, 2002; Sinclair *et al*., 2003)。昆虫过冷却点(supercooling point, SCP)是衡量昆虫耐寒性的一个重要指标(景晓红和康乐, 2004; 陈豪等, 2010)。随着越冬代昆虫种群数量动态、迁飞转移规律与栖息地微环境气候和区域性景观格局特征等关系的研究,为了更加全面地了解昆虫类群的抗寒策略或耐寒机制,诸多学者将过冷却点密切地关联到昆虫种群地理分布、生态环境的入侵以及翌年种群繁衍和传播等生态学方面(孙绪良等, 2001; 陈兵和康乐, 2003, 2005; 孔锋等, 2007; 许益镌等, 2009)。

日本龟蜡蚧 *Ceroplastes japonicus* Green 属半翅目(Hemiptera) 蚧科(Coccidae) 蜡蚧属 *Ceroplastes*,在我国发生普遍且严重地毁坏树木枝干,在新疆和贵州属于高度和中度危险性林业有害生物(阿衣夏木·亚库甫等, 2013; 邱宁宏等, 2014),近年来在青岛街道行树冬青等植物上危害也十分严重。日本龟蜡蚧具有繁殖能力强、发育速度快、危害性大、易随苗木转移等特点,由于其以受精雌成虫在 1 – 2 年生枝条上越冬(王永祥等, 2008),冬季低温对其越冬存活率的影响很大。目前已知日本龟蜡蚧分布于亚美尼亚、保加利亚、法国、意大利、俄罗斯、日本、中国等地(Fetykó and Kozár, 2012),在我国广分布于华东、华中、华南、华北、西南、东北等广大地区(任斌, 2016),严重危害冬青、梅、月季、白兰、芍药、石榴、女贞、柿子等 41 科、百余种植物(邱宁宏等, 2016)。有关日本龟蜡蚧发生规律和防治方面的报道较多(梁隐泉等, 2006; 王永祥等, 2008; 薛照文, 2013; 汤留弟等, 2016),但关于其过冷却点测定及与抗寒相关的生理生化等研究还尚未见报道。本研究通过对日本龟蜡蚧越冬前后及越冬期过冷却点、体内水分、脂肪、甘油、总糖、糖原和海藻糖含量的测定,以探讨日本龟蜡蚧耐寒能力及抗寒机制,以期为日本龟蜡蚧的预测预报及分布区形成机制提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　供试虫源

所用虫源均为日本龟蜡蚧雌成虫。越冬前(2015 年 10 月 4 – 10 日)和越冬期(2016 年 1 月 4 – 10 日)的虫源采自山东省青岛市城阳区道路两旁绿化冬青树上;由于 2016 年 1 月青岛温度很低,越冬后在原来的采集点活虫数量极少,不足以用于实验,因此越冬后(2016 年 4 月 4 – 10 日)虫源采自于山东省青岛市崂山区枯桃花卉市场附近的冬青树上。试虫采回后及时进行过冷却点的测定;相关生化指标测定在试虫采回后 10 d 内完成,先将试虫从枝杆上取下后,选择大小基本相同的雌成虫,每 5 头一组放入 1.5 mL Eppendorf 离心管中, – 80℃ 超低温冰箱(青岛海尔)保存待测。

1.2　过冷却点和冰点测定

采用热电偶原理进行 SCP 和 FP 测定(刘玉娟等, 2014)。选取大小一致的日本龟蜡蚧雌成虫,将待测虫体放入 1.5 mL Eppendorf 离心管中,将过冷

却仪(SUN-Ⅱ,鹏程电子有限公司)的热敏电阻感温探头伸入管中并与虫体腹面接触,高低温试验箱(DW-40,上海一恒仪器公司)以1℃/min 降温,虫体温度变化通过计算机及其配套软件进行自动记录,实时绘制虫体温度变化曲线。每次测定60 头。

1.3　水分和脂肪含量测定

分别取30 头日本龟蜡蚧雌成虫,装入称重的1.5 mL Eppendorf 管(EP 管),电子天平(上海豪晟科学仪器有限公司)称鲜重(fresh weigh, FW)并记录。然后在60℃恒温烘箱(苏州市豪悦电热设备制造厂)中烘24 h 至恒重,冷却后称干重(dry weight, DW),重复5 次,计算日本龟蜡蚧雌成虫含水量,公式为:含水量 = [(FW - DW)/FW] ×100% (李娜等, 2014)。

测完干重后,将烘干的虫体研磨,将研磨粉移入2 mL EP 管中,称重(DW),加氯仿和甲醇混合液(2∶1, v/v)提取,12 000 r/min 离心10 min,弃上清液,重复提取1 次。残渣置于60℃烘箱烘烤48 h 至恒重(lean dry weight, LDW)。虫体脂肪含量(%) = [(DW - LDW)/DW] ×100;脂肪重量 = DW - LDW(李娜等, 2014)。重复5 次。

1.4　虫体甘油的测定

测定方法参照仵均祥(2002)的方法,并作一定的改进。

1.4.1　标准曲线绘制:取16 支试管,分2 组作为2 个重复。分别加入0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 和0.7 mL 甘油标准液,然后用蒸馏水补足至1 mL。每管中加入氧化剂2 mL(130 mg 高碘酸钠、8 g 无水醋酸铵、6 mL 冰醋酸,全部溶解定容至100 mL)摇匀,加入显色剂2 mL(乙酰丙酮0.4 mL,加异丙醇溶解定容至100 mL)充分混合后,60℃水浴中加热显色15 min,冰水冷却。用紫外分光光度计[让奇(上海)仪器科技有限公司]420 nm 波长下进行比色分析,记录吸光值。求回归方程,制作标准曲线。

1.4.2　甘油含量测定:取日本龟蜡蚧雌成虫15 头,蒸馏水冲洗,吸水纸吸干虫体表面水份,置于已称重的15 mL EP 管中称重后,加入1 mL 蒸馏水匀浆,4 mL 蒸馏水4 次冲洗研磨棒。5 000 r/min 离心10 min,取上清液,沉淀加5 mL 蒸馏水再离心一次,合并上清液。每管中加入氧化剂2 mL 和显色剂2 mL 充分混和后,60℃水浴15 min,冷却后在紫外分光光度计上420 nm 波长下进行比色分析。每个处理重复3 次。

1.5　虫体含糖量测定

1.5.1　标准曲线绘制:分别取0.1 mg/mL 的D-葡萄糖溶液0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 和1.0 mL 加入10 mL 带塞具刻度的试管中,不足1 mL 者用10% 三氯乙酸补体积到1 mL;再加入0.2 % 蒽酮试剂4 mL,混合均匀。迅速浸于冰水中冷却,待所有试管均加完后,一起浸入沸水浴中。自重新沸腾起记时间,准确煮沸10 min。然后取出,用自来水冲冷,然后于室温中平衡20 min,用紫外分光光度计在620 nm 波长进行比色分析,记录吸光值。重复3 次。求回归方程,制作标准曲线。

1.5.2　总糖提取和含量测定:取日本龟蜡蚧雌成虫10 头,蒸馏水冲洗,吸水纸吸干虫体表面水分并称重,放入15 mL 试管中,加入1 mL 蒸馏水匀浆,4 mL 10% 三氯乙酸溶液冲洗匀浆器,5 000 r/min 离心5 min,取上清液,用2 mL 10% 三氯乙酸溶液溶解沉淀,反复离心2 次。上清液加10% 三氯乙酸溶液补足10 mL。测定时取0.1 mL 样品液经蒽酮法测定其总糖含量。重复3 次。

1.5.3　虫体海藻糖和糖原提取及含量测定:取日本龟蜡蚧雌成虫10 头,蒸馏水冲洗、吸干并称重后,放入匀浆器中加10% 三氯乙酸溶液1 mL 匀浆,4 mL 10% 三氯乙酸溶液冲洗匀浆器,5 000 r/min 离心10 min,用1 mL 10% 三氯乙酸溶液溶解沉淀,反复离心2 次。上清液加入无水乙醇4 mL 后放置4℃冰箱中24 h。测定时取放置24 h 的上清液1 mL,10 000 r/min 离心15 min,上清液加入1 mL 0.15 mol/L H_2SO_4 溶液,沸水浴水解15 min,冷却后缓慢加入30% KOH 溶液1 mL,振荡混合后沸水浴15 min,冷却后即得到海藻糖测定样品。离心管中剩余的沉淀加入1 mL 蒸馏水,待沉淀充分溶解后即为待测糖原样品。经蒽酮法后620 nm 下比色。重复3 次。

1.6　数据分析

根据待测液的吸光值,在标准曲线上查出相应的甘油和糖含量,按下式计算供试虫体各种测试成分的实际含量:

虫体甘油含量(μg/mg) = [从标准曲线查得的甘油含量(μg/mL) ×样品稀释量(mL)]/虫重(mg);

虫体含糖量(μg/mg) = [从标准曲线查得的糖含量(μg/mL) ×样品稀释量(mL)]/虫重(mg)。

所得数据用Excel 进行计算和做图;使用SPSS 21.0 进行单因素方差分析,用Tukey 氏法进行差异显著性分析。

2 结果

2.1 日本龟蜡蚧越冬前后的过冷却点和冰点

越冬前(2015 年 10 月)日本龟蜡蚧雌成虫的过冷却点和冰点分别为 -13.30℃ 和 -9.95℃,并与 2016 年 1 月越冬期的(-13.74℃ 和 -10.13℃)无显著差异,但均显著低于 2016 年 4 月越冬后的值(-11.88℃ 和 -7.12℃)(过冷却点：$F = 24.267$；$df = 2, 177$；$P < 0.001$；冰点：$F = 52.929$；$df = 2, 177$；$P < 0.001$)(表 1)。

表 1　日本龟蜡蚧雌成虫越冬前后过冷却点和冰点测定结果

Table 1　Supercooling points and freezing points of female adults of *Ceroplastes japonicus* at different overwintering stages

越冬阶段 Overwintering stage	样本数 Number of samples	过冷却点(℃) Supercooling point	冰点(℃) Freezing point
越冬前 Before overwintering	60	-13.30 ±0.19 b	-9.95 ±0.20 b
越冬期 During overwintering	60	-13.74 ±0.13 b	-10.13 ±0.24 b
越冬后 After overwintering	60	-11.88 ±0.25 a	-7.12 ±0.25 a

表中数据为平均值 ± 标准误;同列数据后不同字母表示存在显著性差异($P < 0.05$, Tukey 氏检验)。Data in the table are represented as mean ± *SE*. Different letters within the same column mean significant difference ($P < 0.05$, Tukey's test).

2.2 日本龟蜡蚧越冬前后体内含水量和脂肪含量

日本龟蜡蚧雌成虫越冬前(2015 年 10 月)和越冬后(2016 年 4 月)虫体的含水量较高,分别为 28.84% 和 29.60%,且差异不显著;而越冬期的含水量为 11.28%,且与越冬前和越冬后差异显著($F = 88.565$；$df = 2, 12$；$P < 0.001$)。

日本龟蜡蚧雌成虫体内脂肪含量在越冬前最高为 86.38%,越冬期为 85.77%,两者之间无显著差异,但显著高于越冬后的(77.63%)($F = 65.082$；$df = 2, 12$；$P < 0.001$)(图 1),说明日本龟蜡蚧在越冬之前开始储存大量脂肪以备越冬。

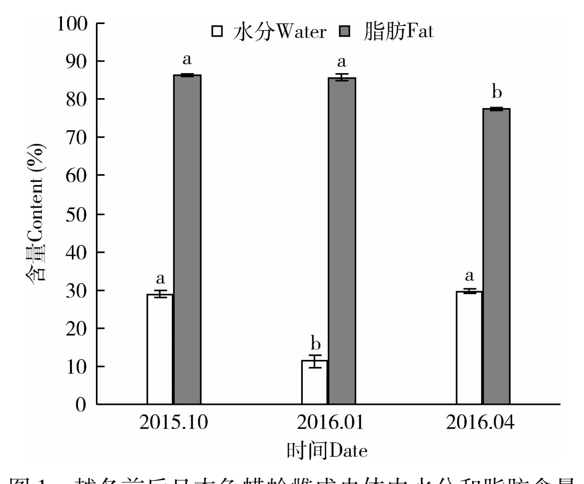


图 1　越冬前后日本龟蜡蚧雌成虫体内水分和脂肪含量

Fig. 1　The contents of water and fat in female adults of *Ceroplastes japonicus* at different overwintering stages

3 个时间分别对应越冬前、越冬期和越冬后;同一物质柱形图上的不同字母表示不同时间差异显著($P < 0.05$, Tukey 氏检验);图 2 同。Three dates represent before, during and after overwintering, respectively. Different letters above bars of the same substance represent significant difference between different time ($P < 0.05$, Tukey's test). The same for Fig. 2.

2.3 日本龟蜡蚧越冬前后甘油、总糖、糖原及海藻糖含量

日本龟蜡蚧雌成虫体内甘油含量在越冬前、越冬期及越冬后分别为 2.73, 2.29 和 2.67 μg/mg,差异不显著($F = 1.735$；$df = 2, 6$；$P = 0.254$)。总糖含量在越冬前和越冬期差异不显著,越冬后的总糖含量显著下降($F = 99.388$；$df = 2, 6$；$P < 0.001$)。糖原含量在越冬前、越冬期和越冬后 3 个时期分别为 4.03, 5.45 和 1.76 μg/mg,差异显著($F = 34.627$；$df = 2, 6$；$P = 0.001$)。海藻糖含量在越冬前最高,为 14.72 μg/mg,显著高于越冬期和越冬后

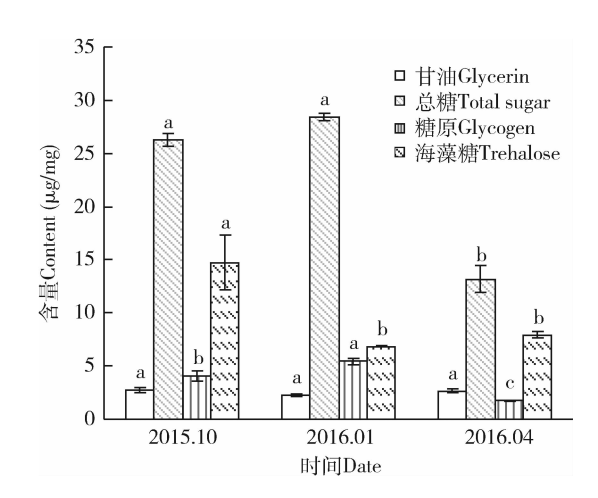


图 2　越冬前后日本龟蜡蚧雌成虫体内甘油、总糖、糖原和海藻糖含量

Fig. 2　Contents of glycerin, total sugar, glycogen and trehalose in female adults of *Ceroplastes japonicus* at different overwintering stages

的($F=8.051$; $df=2,6$; $P=0.020$);越冬期和越冬后海藻糖含量分别为 6.85 和 7.92 μg/mg,两者间差异不显著。

3 讨论

过冷却点是衡量耐寒性高低的一个重要的指标(鞠珍等, 2009; 王鹏等, 2011; 徐丽荣等, 2012),过冷却点越低,耐寒性就越强,在低温下存活率越高(Lee and Denlinger, 1985; Nedved *et al*., 1995; Hodkova and Hodek, 1997; 魏永平等, 2001)。本研究测得日本龟蜡蚧的过冷却点和冰点的大小依次是越冬期(2016 年 1 月)和越冬前(2015 年 10 月) < 越冬后(2016 年 4 月),越冬前和越冬期无显著差异,而与越冬后存在显著差异,说明日本龟蜡蚧通过降低过冷却点和冰点来提高虫体的耐寒能力。另外,日本龟蜡蚧外面有一层厚厚的蜡质外壳,蜡壳对其抵御外界不良的低温环境有一定的作用。而在越冬后的 4 月气温较高,日本龟蜡蚧开始新一轮的生命活动,过冷却点和冰点明显升高,这符合一般昆虫的代谢规律。

本研究测定表明,日本龟蜡蚧在越冬期的过冷却点平均为 -13.74℃,低于此温度其体内细胞就会结冰而死亡。实际调查的结果进一步印证了这一结论。2016 年 1 月 23 - 24 日青岛地区的气温为 -14.3℃,是自 1961 年有气象记录以来的历史最低温,低于日本龟蜡蚧的过冷却点。2016 年 4 月越冬后取样调查时发现,青岛城阳区道路两旁冬青树上日本龟蜡蚧的死亡率达 98% 以上,使越冬后的相关测定无法进行,然后在青岛市崂山区枯桃花卉市场附近路旁的冬青树上采集到日本龟蜡蚧活虫,这里背风向阳,2016 年 1 月份可能小环境的气候不低于其过冷却点温度而得以存活下来。

昆虫体内含水量的变化与耐寒性之间的关系已经在许多昆虫中得到证实(Worland, 1996; 常志光等, 2008)。本实验结果表明越冬期日本龟蜡蚧体内的含水量明显低于越冬前后。体内含水量的降低,使新陈代谢减缓,自由水含量减少,有利于昆虫过冷却点和冰点的降低,对其度过低温环境有利。

许多昆虫在越冬期会积累甘油、山梨醇、甘露醇、五碳多元醇(阿拉伯糖醇或核糖醇)和脂肪酸类、糖或多元醇等小分子抗寒物质,这些小分子物质可以直接与体内的酶或蛋白质作用,可以穿过细胞膜防止冰冻伤害,并且可与一些水分相结合,减少水分的流动,调节体系内渗透压的大小,提高昆虫的耐寒性(Lee, 1989)。本研究结果表明,日本龟蜡蚧脂肪和总糖含量为越冬前和越冬期 > 越冬后,糖原含量的大小依次是越冬后 < 越冬前 < 越冬期,甘油在越冬前后及越冬期无显著变化,海藻糖越冬前 > 越冬期和越冬后。说明日本龟蜡蚧越冬耐寒策略是通过积累脂肪、总糖和海藻糖等物质,以降低过冷却点和冰点而达到提高其耐寒能力。日本龟蜡蚧体内这些物质的变化不仅与其生理代谢有关,也与外界温度变化密切相关。日本龟蜡蚧与很多昆虫不同之处是它外面有蜡壳保护,因此其体内相关生化物质的变化幅度可能会有所不同。本研究基本揭示了日本龟蜡蚧在越冬前后耐寒性的变化规律及其耐寒机理,对分析其地理分布具有一定的理论指导意义。

如前所述,日本龟蜡蚧分布区域较广,有的分布区年最低温远在 -14℃以下,如我国的黑龙江、辽宁和内蒙古年最低温都在 -30℃左右,甚至有时可达 -40 ~ -50℃。日本龟蜡蚧能在这些地方生存,除昆虫本身的遗传因素外,与长期生活在此地的适应性有关,其过冷却点和冰点可能远低于生活在青岛的日本龟蜡蚧。陈兵和康乐(2003)对 5 -7 月生长期间南美斑潜蝇蛹 5 个地理种群的过冷却点研究也表明,地理种群的过冷却点与当地气温年较差呈显著负相关性。关于不同纬度地区日本龟蜡蚧的耐寒性的测定与验证还需要进一步研究。另外,本研究只测定了脂肪、糖等生化指标,没有涉及到蛋白质在越冬前后的变化,有些昆虫在寒冷诱导下产生抗冻蛋白提高昆虫的耐寒性(冯从经等,2007),日本龟蜡蚧的耐寒性与抗冻蛋白的关系也有待进一步研究。

参考文献(References)

Ayixiamu YKP, Yue CY, Kereman SM, Zhang JW, Zhang XP, Nu RGL, 2013. Hazard risk of *Ceroplastes japonicas in* Xinjiang. *Jiangsu Agric. Sci.*, 41(2): 142 - 144. [阿衣夏木·亚库甫, 岳朝阳, 克热曼·塞米, 张静文, 张新平, 努尔古丽, 2013. 日本龟蜡蚧在新疆的风险分析. 江苏农业科学, 41(2): 142 - 144]

Bale JS, 2002. Insect and low temperatures: from molecular biology to distributions and abundance. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 357(1423): 849 - 862.

Chang ZG, Li ZY, Gao SZ, Wang HS, 2008. Relation between the variation of water, protein, fat and cold hardiness of overwintering *Apis mellifera carnica*. *J. Bee*, 28(1): 6 - 7. [常志光, 李志勇, 高寿曾, 王海生, 2008. 卡尼鄂拉蜂越冬期体内水分、蛋白质、脂肪的变化与抗寒性的关系. 蜜蜂杂志, 28(1): 6 - 7]

Chen B, Kang L, 2003. Supercooling point shift of pea leafminer pupae

with latitude and its implication for the population dispersion. *Zool. Res.*, 24(3): 168 – 172. [陈兵，康乐，2003. 南美斑潜蝇地理种群蛹过冷却点随纬度递变及其对种群扩散的意义. 动物学研究，24(3): 168 – 172]

Chen B, Kang L, 2005. Adaptation of insects to environmental temperature stress and population differentiation. *Nat. Sci. Bull.*, 15(3): 265 – 271. [陈兵，康乐，2005. 昆虫对环境温度胁迫的适应与种群分化. 自然科学通报，15(3): 265 – 271]

Chen H, Liang GM, Zou LY, Guo F, Wu KM, Guo YY, 2010. Research progresses in the cold hardiness of insects. *Plant Protection*, 36(2): 18 – 24. [陈豪，梁革梅，邹朗云，郭芳，吴孔明，郭予元，2010. 昆虫抗寒性的研究进展. 植物保护，36(2): 18 – 24]

Feng CJ, Lu WJ, Dong QA, Chen J, Fu WJ, 2007. Effect of low temperature treatment on larvae of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). *Acta Entomol. Sin.*, 50(1): 1 – 6. [冯从经，吕文静，董秋安，陈俊，符文俊，2007. 低温处理对亚洲玉米螟幼虫抗寒性的诱导效应. 昆虫学报，50(1): 1 – 6]

Fetykó K, Kozár F, 2012. Records of *Ceroplastes* Gray 1828 in Europe, with an identification key to species in the Palaearctic region. *Bull. Insectol.*, 65(2): 291 – 295.

Hodkova M, Hodek I, 1997. Temperature regulation of supercooling and gut nucleation in relation to diapause of *Pyrrhocoris apterus* (L.) (Heteroptera). *Cryobiology*, 34(1): 70 – 79.

Jing XH, Kang L, 2004. Overview and evaluation of research methodology for insect cold hardiness. *Entomol. Knowl.*, 41(1): 7 – 10. [景晓红，康乐，2004. 昆虫耐寒性的测定与评价方法. 昆虫知识，41(1): 7 – 10]

Ju Z, Li MG, Diao ZE, Xu YY, 2009. Super-cooling ability and its relations to body's water and fat contents of overwintering *Hyphantrian cunea* (Lepidoptera: Arcidae) pupae. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 20(11): 2763 – 2767. [鞠珍，李明贵，刁志娥，许永玉，2009. 美国白蛾越冬蛹的过冷却能力、体内水分及脂肪含量. 应用生态学报，20(11): 2763 – 2767]

Kong F, Han RD, Pei YH, Li HM, Sun XG, 2007. Cold hardiness of the overwintering pupae of fall webworm *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae). *Sci. Seric.*, 34(4): 534 – 537. [孔锋，韩瑞东，裴元慧，李红梅，孙绪艮，2007. 美国白蛾 *Hyphantria cunea* (Drury)越冬蛹的抗寒性研究. 蚕业科学，34(4): 534 – 537]

Lee RJ, 1989. Insect cold-hardiness: to freeze or not to freeze. *BioScience*, 39(5): 308 – 313.

Lee RJ, Denlinger DL, 1985. Cold tolerance in diapausing and non-diapausing stages of the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Physiol. Entomol.*, 10(3): 309 – 315.

Li N, Zhou XR, Pang BP, Wang Z, 2014. Supercooling capacity in relation to the contents of water and biochemical substances in eggs of *Bryodemella tuberculatum dilutum* (Orthoptera: Oedipodidae). *Acta Entomol. Sin.*, 57(7): 745 – 753. [李娜，周晓榕，庞保平，王振，2014. 轮纹异痂蝗卵的过冷却能力与其体内水分和生化物质含量的关系. 昆虫学报，57(7): 745 – 753]

Li Q, Wang SZ, Feng CH, Zhang M, Jiang F, Yang G, Luo LM, 2008. The physiological and biochemical indexes of the cold-hardiness of *Locusta migratoria tibetensis* Chen. *Acta Ecol. Sin.*, 28(3): 1314 – 1320. [李庆，王思忠，封传红，张敏，蒋凡，杨刚，罗林明，2008. 西藏飞蝗(*Locusta migratoria tibetensis* Chen)耐寒性理化指标. 生态学报，28(3): 1314 – 1320]

Liang YQ, Gao BJ, Zhen ZX, Wang JZ, Liu ZQ, Niu JZ, 2006. Insect community and its relationship with *Ceroplastes japonicus* occurrence in jujube orchards. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 17(3): 472 – 476. [梁隐泉，高宝嘉，臻志先，王江柱，刘志群，牛建忠，2006. 枣园昆虫群落及其与日本龟蜡蚧发生的关系. 应用生态学报，17(3): 472 – 476]

Liu YJ, Zhang TT, Bai SX, He KL, Wang ZY, 2014. Changes of cold hardiness of the overwintering larvae of *Athetis lepigone* (Lepidoptera: Noctuidae) at different overwintering stages. *Acta Entomol. Sin.*, 57(3): 379 – 384. [刘玉娟，张天涛，白树雄，何康来，王振营，2014. 越冬期不同阶段二点委夜蛾越冬幼虫耐寒性变化. 昆虫学报，57(3): 379 – 384]

Nedved O, Hodkova M, Brunnhofer V, Hodek I, 1995. Simultaneous measurement of low temperature survival and supercooling in a sample of insects. *Cryo Lett.*, 16(2): 108 – 113.

Qiu NH, Wang JP, Zhan ZW, Yao L, 2016. Host plant species and damage degrees of *Ceroplastes japonicus*. *Hunan Forest. Sci. Technol.*, 43(4): 44 – 49. [邱宁宏，王家品，詹宗文，姚莉，2016. 日本龟蜡蚧寄主植物种类及危害程度调查. 湖南林业科技，43(4): 44 – 49]

Qiu NH, Zhan ZW, Wang JP, Yao L, 2014. Hazard risk of *Ceroplastes japonicas*. *Guizhou Agric. Sci.*, (1): 109 – 112. [邱宁宏，詹宗文，王家品，姚莉，2014. 日本龟蜡蚧的危害风险. 贵州农业科学，(1): 109 – 112]

Ren B, 2016. The characteristics and risk assessment. *New Agric.*, (7): 48 – 49. [任斌，2016. 日本龟蜡蚧特性及风险评估. 新农业，(7): 48 – 49]

Sinclair BJ, Jaco KC, Scott MB, Terblanche JS, Chown SL, 2003. Diurnal variation in supercooling points of three species of Collembola from Cape Hallett, Antarctica. *J. Insect Physiol.*, 49(11): 1049 – 1061.

Sømme L, 1999. The physiology of cold hardiness in terrestrial arthropods. *Eur. J. Entomol.*, 96(1): 1 – 10.

Sun XG, Wang XH, Li ST, 2001. The cold tolerance mechanism of insects and its research development. *J. Shandong Agric. Univ. (Nat. Sci.)*, 32(3): 393 – 396. [孙绪艮，王兴华，李恕廷，2001. 昆虫的耐寒机制及其研究进展. 山东农业大学学报(自然科学版)，32(3): 393 – 396]

Tang LD, Ji HL, Huang XY, Ling JQ, 2016. Control effect of 5 pesticides and their mixtures against *Ceroplastes japonica* Green on *Euonymus japonicas*. *Forest Pest and Disease*, 35(4): 42 – 43. [汤留弟，吉海龙，黄晓燕，苓建强，2016. 五种药剂及混剂防治大叶黄杨日本龟蜡蚧的效果. 中国森林病虫，35(4): 42 – 43]

Wang P, Yu Y, Men XY, Zhang SC, Zhang AS, Xu YY, Li LL, 2011. Dynamics of cold-resistant substances in overwintering cocooned and non-cocooned larvae of the peach fruit moth, *Carposina niponensis*

Walsingham (Lepidoptera: Carposinidae). *Acta Entomol. Sin.*, 54(3): 279-285. [王鹏, 于毅, 门兴元, 张思聪, 张安盛, 许永玉, 李丽莉, 2011. 越冬过程中桃小食心虫结茧和裸露幼虫体内耐寒性物质动态变化. 昆虫学报, 54(3): 279-285]

Wang YX, Xue CH, Zhang H, Fan JZ, Li L, Wang D, 2008. Occurrence regularity and damage of *Ceroplastes japonica* in poplars. *Forest Pest and Disease*, 27(4): 12-14. [王永祥, 薛翠花, 张浩, 樊继周, 李龙, 王东, 2008. 杨树日本龟蜡蚧发生规律及危害特点. 中国森林病虫, 27(4): 12-14]

Wei YP, Yuan F, Zhang YL, 2001. The resistance and reproductive potential of *Osmia excavata* Alfken. *Entomol. Knowl.*, 38(2): 122-124. [魏永平, 袁锋, 张雅林, 2001. 凹唇壁蜂的耐寒性及生殖潜力研究. 昆虫知识, 38(2): 122-124]

Worland MR, 1996. The relationship between water content and cold tolerance in the Arctic collembolan *Onychiurus arcticus* (Collembola: Onychiuridae). *Eur. J. Entomol.*, 93(3): 341-348.

Wu JX, 2002. Relationship between Diapause and Changes of Chemical Substances in the Wheat Blossom Midge, *Sitoidplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae). PhD Dissertation, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi. [仵均祥, 2002. 麦红吸浆虫滞育与化学物质变化研究. 陕西杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文]

Xu LR, He KL, Wang ZY, 2012. Studies on variation in cold hardiness in relation to the *in vivo* water, lipid, and sugar content of *Conogethes punctiferalis* (Guenée) larvae living on three different host plant species. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 49(1): 197-204. [徐丽荣, 何康来, 王振营, 2012. 不同寄主上桃蛀螟越冬幼虫体内生化物质变化与抗寒性研究. 应用昆虫学报, 49(1): 197-204]

Xu YJ, Lu YY, Huang J, Zeng L, Liang GW, 2009. Cold hardiness of natural populations of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae) in Shenzhen, Guangdong. *Acta Entomol. Sin.*, 52(9): 974-983. [许益镌, 陆永跃, 黄俊, 曾玲, 梁广文, 2009. 红火蚁自然种群耐寒性的研究. 昆虫学报, 52(9): 974-983]

Xue ZW, 2013. A screening experiment on insecticides against *Ceroplastes japonicus* Green. *China Forest. Sci. Technol.*, 27(5): 126-127. [薛照文, 2013. 日本龟蜡蚧防治药剂筛选试验. 林业科技开发, 27(5): 126-127]

(责任编辑: 赵利辉)